

北京地区亚洲玉米螟种群中 *Wolbachia* 超感染

宋月, 王哲, 刘宏岳, 沈佐锐*

(中国农业大学农学与生物技术学院昆虫学系, 北京 100094)

摘要: *Wolbachia* 是一类广泛分布于节肢动物体内, 可以引起节肢动物生殖行为改变的细胞内共生细菌。亚洲玉米螟 *Ostrinia furnacalis* (Guenée) 是我国常见的鳞翅目害虫, 尤其对玉米危害严重。本文通过对 *Wolbachia* 的 *wsp* 基因的 PCR 扩增及克隆测序, 明确了 *Wolbachia* 在北京地区亚洲玉米螟野生种群中的分布情况。结果表明, 在检测的种群中, 存在两种类型的 *Wolbachia*, 分别将其命名为 *wFurA* (GenBank 注册号为 EU294311) 和 *wFurB* (GenBank 注册号为 EU294312); 系统树分析表明其分别属于 *Wolbachia* A 组和 B 组。本研究首次明确了在我国亚洲玉米螟的野生种群内存在着 *Wolbachia* 的超感染现象。

关键词: 亚洲玉米螟; *Wolbachia*; 超感染; 系统树分析

中图分类号: Q968 **文献标识码:** A **文章编号:** 0454-6296(2008)06-0665-06

Superinfection of *Wolbachia* in *Ostrinia furnacalis* (Guenée) populations in Beijing

SONG Yue, WANG Zhe, LIU Hong-Yue, SHEN Zuo-Rui* (Department of Entomology, College of Agronomy and Biotechnology, China Agricultural University, Beijing 100094, China)

Abstract: *Wolbachia* is a common and widespread group of bacteria found in reproductive tissues of many arthropods. Asian corn borer, *Ostrinia furnacalis* (Guenée), is a common lepidopteran pest in China. In this study, two kinds of *Wolbachia* were detected in a natural population of *O. furnacalis* (Guenée) from Beijing based on the PCR and cloning of *wsp* gene. The *wsp* genes we sequenced were named as *wFurA* (GenBank accession no. EU294311) and *wFurB* (GenBank accession no. EU294312), respectively. Phylogenetic tree analysis indicated that *wFurA* and *wFurB* belong to group A and group B of *Wolbachia*, respectively. This is the first report of superinfection with distinct lineages of *Wolbachia* in wild *O. furnacalis* (Guenée) populations in China.

Key words: *Ostrinia furnacalis*; *Wolbachia*; superinfection; phylogenetic tree analysis

Wolbachia 是一类寄生在节肢动物体内, 能够引起其寄主生殖行为改变的细胞质遗传的共生菌 (O'Neill *et al.*, 1992)。它属于细菌门变形菌纲的 α 亚纲, 立克次氏体目, 立克次氏体科, *Wolbachia* 属。*Wolbachia* 在节肢动物中具有广泛的分布, 据报道在包括昆虫在内的许多种节肢动物和线虫中, 有 20% 以上的种类都感染了 *Wolbachia* (Werren *et al.*, 1995a; Jeyaprakash and Hoy, 2000)。Tagami 和 Miura (2004) 对日本鳞翅目昆虫中的 49 个种和 9 个科进行了调查, 结果表明 44.9% 的种和 77.8% 的科都感染了 *Wolbachia*。到目前为止, 已有许多报道证实

多种昆虫的自然种群中存在着 *Wolbachia* 的超感染现象 (Kondo *et al.*, 2002; Covacin and Barker, 2007)。*Wolbachia* 参与调控寄主的多种生殖活动 (龚鹏等, 2002), 如诱导细胞质不亲和 (cytoplasmic incompatibility, CI)、孤雌生殖诱导 (parthenogenesis inducing, PI)、遗传雄性的雌性化 (feminization of genetic males)、雄性致死 (male killing) 及增强雌性繁殖力和雄性生育力 (fecundity and fertility-modifying) 等等, 从而引起寄主的生殖行为异常, 对于种群分化及物种形成都有一定作用。

wsp 基因是编码 *Wolbachia* 表面蛋白 (surface

基金项目: 国家自然科学基金项目 (30471166)

作者简介: 宋月, 女, 1980 年 1 月生, 辽宁葫芦岛人, 博士研究生, 从事昆虫分子生物学研究, E-mail: songyue409@gmail.com

* 通讯作者 Author for correspondence, E-mail: ipmist@cau.edu.cn

收稿日期 Received: 2007-11-30; 接受日期 Accepted: 2008-04-30

protein) 的基因, 它的进化速度比其他已报道的基因(如 16S, *ftsZ* 等) 更快(Zhou *et al.*, 1998)。Zhou 等(1998) 根据 *wsp* 基因建立的系统进化树, 在将 *Wolbachia* 分为 A, B, C, D 四个组的基础上, 又将主要感染昆虫、螨及甲壳类动物的 A、B 两组细分为 12 个亚组。近年来, 随着对 *Wolbachia* 研究的增多和深入, 有许多新的亚组被发现。

玉米螟是一种世界性的害虫, 属于鳞翅目螟蛾科, 主要有欧洲玉米螟 *Ostrinia nubilalis* (Hübner) 和亚洲玉米螟 *O. furnacalis* (Guenée) 两种, 我国均有分布, 后者是我国玉米螟的优势种, 分布广泛(全国玉米螟综合防治研究协作组, 1988)。亚洲玉米螟主要危害玉米、高粱、谷子、棉花等农作物, 其中玉米的受害减产最为严重, 造成了巨大的经济损失(文丽萍等, 1992)。近年来, 研究发现 *Wolbachia* 能够引起亚洲玉米螟遗传雄性的雌性化(feminization) (Kageyama *et al.*, 1998, 2002)。为了明确我国亚洲玉米螟体内 *Wolbachia* 的感染情况, 我们通过 PCR 扩增及分子克隆测序对 *Wolbachia* 在我国亚洲玉米螟体内的分布做了调查, 这为进一步揭示 *Wolbachia* 对亚洲玉米螟的生殖调控作用具有重要的意义, 也可为我国亚洲玉米螟的防治工作提供新的思路和方法。

1 材料与方法

1.1 材料

本研究中所用的亚洲玉米螟成虫采自北京市海淀区东北旺玉米田(北纬 39.9 度, 东经 116.4 度), 经中国科学院动物研究所宋士美老师鉴定后, 用无水乙醇浸泡于 -20°C 保存备用。

1.2 总 DNA 的提取

取 31 头玉米螟成虫, 用灭菌水清洗后将每头成虫的腹部和胸部分成多段, 分别置于 1.5 mL 的离心管内, 加入 400 μL 的提取缓冲液 [100 mmol/L Tris-HCl pH7; 1.4 mol/L NaCl; 20 mmol/L EDTA; 2% hexadecyltrimethylammonium bromide (CTAB)], 充分研磨后于 65°C 水浴 1 h, 加入 0.1 μL RNase 后 37°C 放置 1 h。再加入 1 000 μL 氯仿/异戊醇(24:1) 反复混匀, 10 000 r/min 离心 15 min 后取上清, 然后加入 2 倍体积的冰冷无水乙醇和 1/10 体积的 3 mol/L 的醋酸钠(pH7.0), 混匀后于 -20°C 沉淀 3 h 以上, 13 000 r/min 离心 15 min, 弃上清, 沉淀用 70% 乙醇洗 2 次, 于室温下干燥, 加入 40 μL 灭菌水溶解 DNA, 置于 -20°C 保存待用。

1.3 *wsp* 基因的 PCR 扩增及其电泳检测

本实验分别采了用 *wsp* A 和 B 的特异性引物对亚洲玉米螟进行了 PCR 检测, 扩增引物分别为: A: 136F 5'-TGA AAT TTT ACC TCT TTT C-3'; 691r 5'-AAA AAT TAA ACG CTA CTC CA-3'; B: 81f 5'-TGG TCC AAT AAG TGA TGA AGA AAC-3'; 522Br 5'-ACC AGC TTT TGC TTG ATA-3' (Zhou *et al.*, 1998)。扩增体系 (25 μL) 包括: 亚洲玉米螟总 DNA 溶解液 2.5 μL , PCR Buffer 2.5 μL , dNTPs 2 μL (2.5 mmol/L each), 正反向引物各 1 μL (25 $\mu\text{mol/L}$ each), Taq DNA 聚合酶 0.3 μL [5 U/ μL , 购自天根生化科技(北京)有限公司], 加灭菌的双蒸水至 25 μL 。PCR 程序为 94°C 预变性 3 min, 35 个循环 (94°C , 1 min; 55°C , 1 min; 72°C , 1 min) 后, 72°C 延伸 10 min。用昆虫线粒体 28S rDNA 引物进行 PCR 扩增, 以检测试验中提取的昆虫 DNA 的质量, 28S rDNA 扩增结果为阴性的样品不包括在本研究的统计范围内。含有 A、B 两组 *Wolbachia* 的玉米螟赤眼蜂(本实验室的饲养种群) 的 DNA 作为 PCR 的阳性对照, 阴性对照中只加双蒸水。扩增反应结束后, PCR 产物用 2% 的 TAE 琼脂糖凝胶电泳检测。

1.4 PCR 产物的回收及克隆测序

将目的片段在紫外灯下切割回收, 纯化后与 pMD19-T 载体[宝生物工程(大连)有限公司] 在 4°C 连接过夜。然后将连接产物与感受态细胞(DH5 α) 进行热激转化。转化子于含 60 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的氨苄抗性的 LB 培养基上 37°C 倒置培养 16 h, 筛选阳性克隆。最后将阳性菌液交上海生工生物工程技术服务有限公司测序。

1.5 序列分析

通过 DNAMAN v5.2.2 和 MEGA4.0 等软件分析所得到的序列。并将所得到的序列在美国国家生物技术信息中心(NCBI) 网站上进行序列比对, 以确定所得到的是否为 *Wolbachia* 序列。

2 结果与分析

2.1 亚洲玉米螟体内感染 *Wolbachia* 的电泳检测结果

利用 *Wolbachia* 的 *wsp* A 特异性引物, 成功地从亚洲玉米螟总 DNA 中扩增到了一条 550 bp 左右的片段, 通过 *wsp* B 特异性引物扩增得到了一条 440 bp 左右的片段, 所有检测的亚洲玉米螟个体体内均同时感染了 A、B 两组 *Wolbachia*, 证实了 *Wolbachia*

在我国亚洲玉米螟体内的超感染。

2.2 *wsp* 基因序列分析

将测得的序列在美国国家生物技术信息中心 (NCBI) 网站上进行 BLAST, 发现本实验测得的序列与 GenBank 中注册的 *Wolbachia* 的 *wsp* 基因序列的同源性达 95% 以上, 可以确认本实验得到的序列为 *Wolbachia* 的 *wsp* 基因序列。我们将得到的两条 *wsp* 基因序列分别在 GenBank 中进行了注册, 并分别命名为 *wFurA* (登录号为 EU294311) 和 *wFurB* (登录号为 EU294312)。*wFurA* 共 551bp, 各碱基的含量分别为: 176A (31.9%), 126C (22.9%), 82G (14.9%), 167T (30.3%)。*wFurB* 共 442bp, 各碱基含量分别为: 140A (31.7%), 69C (15.6%), 98G (22.2%), 135T (30.5%)。

2.3 系统树的建立

将本实验所得到的序列与引自 GenBank 的 46 条序列 (表 1) 一起输入 MEGA4.0, 采用距离法, 在 Kimura-2 Parameter 模型下, 建立 NJ 树 (图 1), 各分支的 bootstrap 置信度用 1 000 次自导复制来评价。从系统树的拓扑结构可以看出, 依据 *wsp* 基因将 *Wolbachia* 分成了 A、B 两组, *wFurA* 属于 A 组中的 *Kue* 亚组, *wFurB* 属于 B 组中的 *pip* 亚组。

3 讨论

3.1 *Wolbachia* 在亚洲玉米螟中的超感染

在寄主个体体内有 2 种或更多种共生菌同时感染的现象称为超感染, 也叫多重感染 (Werren, 1997)。本研究中所检测的亚洲玉米螟个体体内均感染了 A、B 两种 *Wolbachia*, 即为超感染现象。

Wolbachia 是通过细胞质母性遗传的, 在寄主中主要是垂直传播的, 然而, 研究表明 *Wolbachia* 在各种不同的寄主之间也存在着横向传播 (Werren *et al.*, 1995b; Zhou *et al.*, 1998)。根据测序结果分析, 发现 *wFurA* 与广赤眼蜂 *Trichogramma evanescens* 所感染的 *Wolbachia wEvaB*, 玉米螟赤眼蜂 *Trichogramma ostrinae* 所感染的 *Wolbachia wOstA* 的 *wsp* 基因的相似率都高于 98%: 说明这两种赤眼蜂所感染的 *Wolbachia* 与 *wFurA* 属于同一亚组。*wFurB* 与螟黄赤眼蜂 *Trichogramma chilonis* 感染的 *Wolbachia wChi*, 松毛虫赤眼蜂 *Trichogramma dendrolimi* 感染的 *Wolbachia wDen* 的 *wsp* 基因的相似率都达到了 98% 以上, 属于同一个亚组。这几种赤眼蜂都是我国亚洲玉米螟卵寄生蜂, 在我国玉米田间具有广泛的分

布 (张荆等, 1990; 林乃铨, 1994), 由此可以推断, *Wolbachia* 在亚洲玉米螟与其寄生蜂之间可能存在着横向传播。

3.2 *Wolbachia* 对亚洲玉米螟的作用

Kageyama 等 (1998, 2002) 报道, 亚洲玉米螟的日本种群中有 *Wolbachia* 感染, 并且引起了亚洲玉米螟遗传雄性的雌性化, 在检测的 79 头野生玉米螟雌性个体中, 有 13 头感染了 *Wolbachia*, 其中 12 头雌虫所产生的后代都为雌性。抗生素处理证明了 *Wolbachia* 对亚洲玉米螟的雌性化作用。亚洲玉米螟的日本种群中 *Wolbachia* 的感染率较低。我们的检测结果表明, *Wolbachia* 在亚洲玉米螟的北京种群中的分布情况与日本种群中的分布情况是不同的。

首先在亚洲玉米螟的日本种群中只感染了一种 *Wolbachia* (GenBank 注册号为 AB056664), 通过聚类树可以看出, 它属于 B 组中的 *Con* 亚组。而亚洲玉米螟的北京种群中存在着 A、B 两组 *Wolbachia* 的超感染现象, *wFurA* 属于 A 组中的 *Kue* 亚组, *wFurB* 属于 B 组中的 *pip* 亚组, 这与日本种群中感染的 *Wolbachia* 完全不同。而且在日本种群中, *Wolbachia* 的感染率较低, 而在我们的实验中发现, 我们所检测的 31 头亚洲玉米螟中, 都感染了这两种 *Wolbachia*, 超感染率为 100%。

那么, 在亚洲玉米螟的北京种群中所感染的 *Wolbachia* 对其寄主到底有着怎样的作用呢? 是否也会引起其遗传雄性的雌性化呢? 通过聚类分析及以往报道的情况来看, 与亚洲玉米螟北京种群所感染的 *Wolbachia wFurA* 同属于 *Kue* 亚组的 *wKayA* 能够引起其寄主的产雌孤雌生殖, 而同样属于 *Kue* 亚组的 *wBou* 则能够增强其寄主的生殖能力。与 *wFurB* 同属于 *pip* 亚组的 *wpip* 和 *wAlbB* 都能引起其寄主的细胞质不亲和现象。

Wolbachia 对其寄主的生殖调控作用会受到各种因素的影响, 比如同一种 *Wolbachia*, 对不同种类的寄主所起的生殖调控作用可能不同, 而且当 *Wolbachia* 的密度不同时, 其作用可能也会有所不同 (Werren, 1997)。那么亚洲玉米螟北京种群中所感染的 *wFurA* 和 *wFurB* 会对其寄主起怎样的生殖调控作用呢? 这两种 *Wolbachia* 是如何在寄主体内和平共存的呢? 它们之间是否存在着某种相互制约的调控机制呢? 这些还需要进一步的研究。

致谢 感谢中国科学院动物研究所宋士美老师帮助鉴定玉米螟种类。

表 1 用于构建系统树的 *Wolbachia* 的 *wsp* 基因序列信息

Table 1 The information of <i>wsp</i> gene for constructing the phylogenic tree of <i>Wolbachia</i> strains					
组 Group	亚组 Subgroup	寄主 <i>Wolbachia</i> host species	<i>Wolbachia</i> 品系 Associated <i>Wolbachia</i> strain	对寄主的作用 Phenotype	GenBank accession no.
A	Mel	<i>D. melanogaster</i> (Aub)	wMel	CI	AF020063
		<i>D. simulans</i> (Coffs harbour)	wCof	NE	AF020067
		<i>A. fuscipennis</i>	wFus	T	AF071909
		<i>D. melanogaster</i> (Harwich)	wMelH	NE	AF020066
	AlbA	<i>A. albopictus</i>	wAlbA	CI	AF020058
	Mors	<i>G. morsitans</i>	wMors	?	AF020079
		<i>N. vitripennis</i>	wVitA	CI	AF020081
		<i>G. centralis</i>	wCen	?	AF020078
		<i>C. peregrinus</i>	wPer	T	AF071914
	Kue	<i>E. kuehnelella</i>	wKue	?	AF071911
		<i>T. kaykai</i> (LC110)	wKayA	T	AF071912
		<i>T. ourarachae</i>	wBou	Fec	AF071913
		<i>T. ostrinae</i> (BJ)	wOstA	?	AY633578
		<i>T. ostrinae</i> (GD)	wOstGDA	?	AY633581
		<i>T. evanescens</i>	wEvaB	?	AY390280
	Riv	<i>D. simulans</i> (Riverside)	wRi	CI	AF020070
	Uni	<i>M. uniraptor</i>	wUni	T	AF020071
	Ha	<i>D. sechella</i>	wHa	CI	AF020073
		<i>C. cautella</i>	wCauA	CI	AF020075
	Pap	<i>P. papatasi</i>	wPap	?	AF020082
	Aus	<i>G. austeni</i>	wAus	?	AF020077
	Dro	<i>T. drosophilae</i>	wDro	CI	AF071910
	Eva	<i>T. evanescens</i>	wEvaA	?	AY390279
B	Con	<i>T. confusum</i>	wCon	CI	AF020083
		<i>L. striatellus</i>	wStri	CI	AF020080
		<i>T. bedeguaris</i>	wBed	T/?	AF071915
		<i>O. furnacalis</i>	MD920	F	AB056664
	Dei	<i>T. deion</i> (TX)	wDei	T	AF020084
	Sib	<i>T. sibericum</i> (SIB)	wSib	T	AF071923
	Kay	<i>T. kaykai</i> (JT6-3)	wKayB	T	AF071924
		<i>T. kaykai</i> (LC110)	wKayLC	T	AF071927
		<i>T. deion</i> (SW436)	wDeiSW	T	AF071925
	Div	<i>A. diversicornis</i>	wDiv	T	AF071916
	For	<i>E. formosa</i>	wFor	?	AF071918
	Ori	<i>T. orizicolus</i>	wOri	CI	AF020085
		<i>D. rosae</i>	wRos	T/?	AF071922
		<i>S. fuscipes</i>	wFu	T/?	AF071921
		<i>C. cautella</i>	wCauB	CI	AF020076
		<i>E. staufferi</i>	wSta	T/?	AF071919
		<i>L. australis</i>	wAus	T	AF071920
	Pip	<i>C. pipiens</i> (ESPRO)	wPip	CI	AF020061
		<i>D. simulans</i> (DSW/MAU)	wMa	—	AF020069
		<i>A. albopictus</i> (Houston)	wAlbB	CI	AF020059
		<i>T. dendrolimi</i>	wDen	?	AF394235
	Vul	<i>T. chilonis</i>	wChi	?	AY311486
		<i>A. vulgare</i>	wVul	F	AF071917

此表中除了黑体标记的中国品系外,引自 Van Meer 等(1999)。This table is cited from Van Meer *et al.* (1999), except the Chinese strains in bold. CI: 细胞质不亲和作用 Cytoplasmic incompatibility; F: 雌性化 Feminization; Fec: 增强繁殖力 Fecundity increase; NE: 没有作用或者是对 CI 的营救作用 No effect or rescue effect of CI; T: 产雌孤雌生殖 Thelytoky; T/? : *Wolbachia* 与产雌孤雌生殖作用同时存在,但是未经实验证实 *Wolbachia* and thelytoky are both observed, but no curing experiments have been performed; ?: 未知 Unknown.

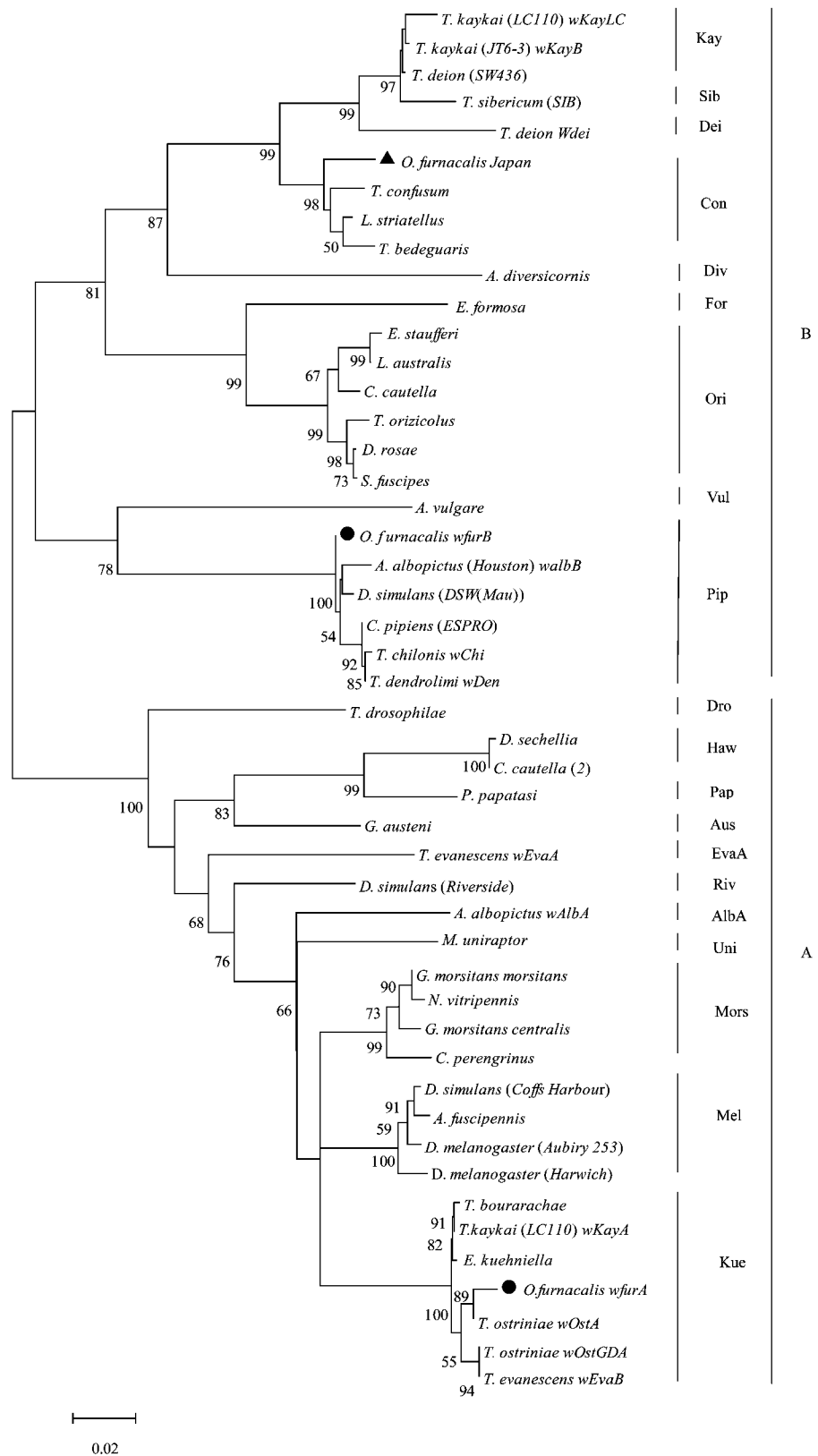


图 1 基于 *wsp* 基因序列的亚洲玉米螟体内共生菌 *Wolbachia* 的系统进化关系示意图
Fig. 1 Phylogenetic tree of *Wolbachia* strains in *Ostrinia furnacalis* based on *wsp* gene

参 考 文 献 (References)

Covacin C, Barker SC, 2007. Supergroup F *Wolbachia* bacteria parasitise lice (Insecta : Phthiraptera). *Parasitol. Res.*, 100 : 479 – 485.

Gong P, Shen ZR, Li ZH, 2002. *Wolbachia* endosymbionts and their manipulation of reproduction of arthropod hosts. *Acta Entomol. Sin.*, 45 (2) : 241 – 252. [龚鹏, 沈佐锐, 李志红, 2002. *Wolbachia* 属共生细菌及其对节肢动物生殖活动的调控作用. *昆虫学报*, 45 (2) : 241 – 252]

Jeyaprkash A, Hoy MA, 2000. Long PCR improves *Wolbachia* DNA amplification : wsp sequences found in 76% of sixty-three arthropod species. *Insect Mol. Biol.*, 9 : 393 – 405.

Kageyama D, Hoshizaki S, Ishikawa Y, 1998. Female-biased sex ratio in the Asian corn borer, *Ostrinia furnacalis* : evidence for the occurrence of feminizing bacteria in an insect. *Heredity*, 81 : 311 – 316.

Kageyama D, Nishimura G, Hoshizaki S, Ishikawa Y, 2002. Feminizing *Wolbachia* in an insect, *Ostrinia furnacalis* (Lepidoptera : Crambidae). *Heredity*, 88 : 444 – 449.

Kondo N, Ijichi N, Shimada M, Fukatsu T, 2002. Prevailing triple infection with *Wolbachia* in *Callosobruchus chinensis* (Coleoptera : Bruchidae). *Mol. Ecol.*, 11 : 167 – 180.

Lin NQ, 1994. Systematic Studies of Chinese Trichogrammatidae. Fujian Science and Technology Publishing House, Fuzhou. 317 – 340. [林乃铨, 1994. 中国赤眼蜂分类. 福州 : 福建科学技术出版社. 317 – 340]

O'Neill SL, Giordano R, Colbert AME, Karr TL, Robertson HM, 1992. 16S rRNA phylogenetic analysis of the bacterial endosymbionts associated with cytoplasmic incompatibility in insects. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 89 : 2 699 – 2 702.

Tagami Y, Miura K, 2004. Distribution and prevalence of *Wolbachia* in Japanese populations of Lepidoptera. *Insect Mol. Biol.*, 13 (4) : 359 – 364.

The All China Corn Borer Research Group, 1988. Studies on the identification of the dominant corn borer species in China. *Acta Phytophy. Sin.*, 15 (3) : 145 – 152. [全国玉米螟综合防治研究协作组, 1988. 我国玉米螟优势种的研究. *植物保护学报*, 15 (3) : 145 – 152]

Van Meer MMM, Witteveldt J, Stouthamer R, 1999. Phylogeny of the arthropod endosymbiont *Wolbachia* based on the *wsp* gene. *Insect Mol. Biol.*, 8 (3) : 399 – 408.

Wen LP, Wang ZY, Ye ZH, Wang ZY, He KL, Song YY, 1992. Yield losses and economic threshold of Asian corn borer, *Ostrinia furnacalis* (Guenée) on corn. *Scientia Agricultura Sinica*, 25 : 44 – 49. [文丽萍, 王振营, 叶志华, 王忠跃, 何康来, 宋彦英. 1992. 亚洲玉米螟对玉米的为害损失估计及经济阈值研究. *中国农业科学*, 25 : 44 – 49]

Werren JH, 1997. Biology of *Wolbachia*. *Annu. Rev. Entomol.*, 42 : 587 – 609.

Werren JH, Windsor D, Guo LR, 1995a. Distribution of *Wolbachia* among Neotropical arthropods. *Proc. R. Soc. Lond. B*, 262 : 197 – 204.

Werren JH, Windsor D, Guo LR, 1995b. Evolution and phylogeny of *Wolbachia* : reproductive parasites of arthropods. *Proc. R. Soc. Lond. B*, 261 : 55 – 71.

Zhang J, Wang JL, Cong B, Yang CC, 1990. A faunal study of *Trichogramma* (Hym. : Trichogrammatidae) species on *Ostrinia furnacalis* (Lep. : Pyralidae) in China. *Chinese Journal of Biological Control*, 6 (2) : 49 – 53. [张荆, 王金玲, 丛斌, 杨长成, 1990. 我国亚洲玉米螟赤眼蜂种类及优势种的调查研究. *生物防治通报*, 6 (2) : 49 – 53]

Zhou WG, Rousset F, O'Neill S, 1998. Phylogeny and PCR-based classification of *Wolbachia* strains using *wsp* gene sequences. *Proc. R. Soc. Lond. B*, 265 : 509 – 515.

(责任编辑 : 袁德成)